AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

ÜBER EXPERIMENTELL ERZEUGTE VERÄNDERUNGEN IM LIPOIDGEHALT DER NEBENNIEREN UND DEREN BEZIEHUNGEN ZUM CHOLESTERINGEHALT DES BLUTSERUMS

1921

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN VERFASST UND EINER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER
KGL. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON

OTTO KÖHLER
AUS PIRNA a. d. E.

LEIPZIG
VERLAG VON F. C. W. VOGEL
1912

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154015_0088

AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

ÜBER EXPERIMENTELL ERZEUGTE VERÄNDERUNGEN IM LIPOIDGEHALT DER NEBENNIEREN UND DEREN BEZIEHUNGEN ZUM CHOLESTERINGEHALT DES BLUTSERUMS

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN VERFASST UND EINER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER
KGL. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON

OTTO KÖHLER
AUS PIRNA a. d. E.

LEIPZIG
VERLAG VON F. C. W. VOGEL
1912

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät München
Referent: Prof. Borst.

Meinen Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet.

Ein seit langem bekanntes und recht charakteristisches Merkmal der Nebennierenrinde ist ihr Fettgehalt. Dieses Fett wurde in früheren Zeiten für Neutralfett angesehen.

Bei der Wiederauffindung der doppelbrechenden Eigenschaft mancher Fette durch Kaiserling und Orgler und Einführung dieser Untersuchungsmethode in die mikroskopische Technik, wurde von den genannten Autoren auch die doppelbrechende Eigenschaft des Fettes der Nebennierenrinde betont. Über die chemische Natur dieser doppelbrechenden Substanz war man lange Zeit im Unklaren, bis durch Untersuchungen, wie sie hauptsächlich von Aschoff, Adami, Panzer u. a. und neuerdings wieder von Kawamura vorgenommen worden sind, sichergestellt wurde, daß es sich — jedenfalls vorwiegend — um Cholesterinester handelt. Kawamuras Arbeit hat vor allem in die histologische Differentialdiagnose der Fettsubstanzen Klarheit gebracht.

Nach ihm können wir durch eine Reihe von Gruppenreaktionen die cholesterinhaltigen Substanzen (auch die, die das Cholesterin in anderer als in esterartiger Bindung enthalten) mikroskopisch einigermaßen erkennen.

Die Cholesterinester sind in erster Linie charakterisiert durch Bildung doppelbrechender Tropfen, die beim Erwärmen ihre optische Eigenschaft einbüßen, um sie beim Abkühlen wieder zu erlangen. Mit Neutralrot sind sie nicht färbbar, mit Nilblausulfat färben sie sich leicht rötlich, mit Sudan III gelblichrot. Die Färbung nach der Smith-Dietrichschen Methode ist negativ.

Die Cholesterinfettsäuregemische verhalten sich ebenso bis auf die Smith-Dietrichsche Färbung, bei der sie ein positives Resultat ergeben. Ferner zeigen sie Neigung zu Myelinbildung.

Die Cholesteringlyzerinestergemische zeigen keine Doppelbrechung, aber Neigung zu Myelinbildung. Mit Neutralrot sind sie

nicht färbbar, mit Sudan III färben sie sich gelbrot, mit Nilblau bläulichrot. Die Smithsche Reaktion fällt positiv aus.

Die Gemische des Cholesterins mit den übrigen Lipoiden (Phosphatiden, Cerebrosiden usw.) zeigen wieder Doppelbrechung, die beim Erwärmen verloren geht, sie färben sich mit der Smith-Dietrichschen Methode positiv, mit Neutralrot rot, mit Nilblau blau.

Reines Cholesterin endlich zeigt keine Doppelbrechung, färbt sich weder mit Neutralrot noch nach der Smith-Dietrichschen Methode, mit Nilblau rötlich, mit Sudan III gelbrot.

Bei der großen Bedeutung die heutzutnge die Lipoide in der Biologie haben, und bei der Tatsache, daß dem Cholesterin gegen verschiedene Gifte die Bedeutung eines Schutzstoffes zukommt (wohl zuerst von Ransom für Saponin nachgewiesen), lag es nahe, einmal die Schwankungen des Lipoidgehaltes der Nebennierenrinde genau zu untersuchen, besonders der Cholesterinester und sonstiger cholesterinhaltiger Lipoide.

Solche Beobachtungen wurden von Albrecht und Weltmann in der Wiener klinischen Wochenschrift vom 6. April 1911 mitgeteilt, ferner von Kawamura in seiner Monographie über Cholesterinesterverfettung; schließlich berichtet Hueck in einem Vortrag im ärztlichen Verein München im Juli 1911 über die Beziehungen der Fettsubstanz der Nebennierenrinde zu Allgemeinerkrankungen.

Da die Befunde dieser Autoren fast zu gleicher Zeit veröffentlicht sind, sind sie ganz unbeeinflußt voneinander erhoben. Um so beachtenswerter erscheint die verhältnismäßig gute Übereinstimmung ihrer Ergebnisse.

Bei längerdauernden, akuten infektiösen, septischen und pyämischen Prozessen, ferner bei ulzerierendem Karzinom und Tuberkulose zeigte sich eine Verminderung der Cholesterinester in der Nebennierenrinde, wohingegen bei Arteriosklerose und in der Schwangerschaft sich sehr reichliche doppelbrechende Substanzen fanden. Albrecht und Weltmann beobachteten ferner eine Vermehrung der doppelbrechenden Substanz bei chronischer Nierenentzündung, bei Herzfehlern, sowie bei Cirrhosis hepatis. Hueck fand eine Verminderung der doppelbrechenden Substanzen bei perniziöser Anämie, eine Vermehrung bei Diabetes mellitus. Kawamura gibt allerdings an, bei Diabetes eine Verminderung des Fettes der Nebennierenrinde gefunden zu haben, doch dürfte dabei — mit Ausnahme eines Falles bei einem Kinde — die Sepsis eine Rolle gespielt haben (bei dieser findet sich meist eine starke Verminderung). Albrecht und Weltmann sehen als einheitliches Moment für die Vermehrung der

Cholesterinester in der Nebennierenrinde endogene Krankheitsursachen an, für die Verminderung dagegen exogene Ursachen. Hueck weist bei der Gruppe der verminderten doppelbrechenden Substanzen auf das den Fällen dieser Gruppe häufig gemeinsame Zugrundegehen von roten Blutkörperchen hin.

Andere Forscher haben nun bei einigen der eben erwähnten Erkrankungen auf einen mit ziemlicher Konstanz schwankenden Gehalt des Blutserums an Cholesterin aufmerksam gemacht. So fand Port eine Erhöhung des Cholesteringehaltes des Blutserums

bei Diabetes mellitus (stets),
bei Nephritis chronica (zuweilen),
bei einzelnen Typhusfällen,

eine Verminderung des Cholesteringehaltes

bei drei Fällen von perniziöser Anämie,
bei einzelnen Fällen von Tuberkulose.

Port prüfte den Gehalt der verschiedenen Sera, indem er in vitro die Schutzkraft des Serums gegen die Saponinhämolyse feststellte. Wie Ransom nachgewiesen hat, beruht die schützende Kraft des Serums gegen die Saponinhämolyse auf dem Gehalt des Blutserums an Cholesterin.

Ferner stellten Klemperer und Umber durch Analysen einen erhöhten Cholesteringehalt des Blutserums bei Diabetes mellitus fest. Neumann und Hermann weisen auf einen vermehrten Cholesteringehalt des Blutes in der Schwangerschaft hin, Windaur konstatierte einen erhöhten Gehalt der atheromatösen Aorta an Cholesterinestern.

Bei dieser Sachlage lag der Gedanke nahe, ob sich der Gehalt der Nebennierenrinde an cholesterinhaltigen Substanzen vom Blut aus experimentell beeinflussen lasse.

Albrecht und Weltmann berichten bereits über solche Versuche, ohne jedoch in ihrer kurzen Mitteilung genauere Angaben über die Technik zu machen.

Ich halte mich daher zu einer ausführlichen Mitteilung meiner Versuche für berechtigt, da ich mich auf Anregung und unter Anleitung von Hueck, bevor uns die Veröffentlichung von Albrecht und Weltmann bekannt war, mit diesen Versuchen beschäftigte.

Da, wie schon oben erwähnt wurde, das Cholesterin des Blutes einen Schutzstoff gegen die Saponinhämolyse bildet, lag es nahe, sich zur experimentellen Nachprüfung dieser Frage des Saponins zu bedienen.

Es kam nun darauf an, den Cholesteringehalt des Blutserums zu bestimmen. Der chemische Weg war in unserem Falle nicht gut

gangbar, da hierzu zu große Blutmengen erforderlich sind, deren Entziehung für die Versuchstiere bei den häufigen Untersuchungen zu schädigend gewesen wäre.

Ich wählte daher den auch von Port benutzten Weg, nämlich den Cholesteringehalt des Blutserums durch die Stärke seiner Schutzkraft gegen die Saponinhämolyse zu bestimmen. Daß das Saponin durch Cholesterin quantitativ entgiftet wird ist neuerdings erst wieder von Karaulow festgestellt worden. Für das Digitonin (ein zur Gruppe der »Saponine« gehöriges Glykosid) hat Windaus eine quantitative chemische Bindung mit Cholesterin nachgewiesen. Ich benutzte zu meinen Versuchen Digitonin wegen seines hohen Kostenpunktes nur selten.

Ferner kam es darauf an, den Gehalt der Nebennierenrinde an cholesterinhaltigen Substanzen zu bestimmen, was durch die Anstellung der oben geschilderten histologischen Reaktionen geschah.

Zunächst wurden Kaninchen als Versuchstiere verwendet. Jedoch erwiesen sich bei eingehender Untersuchung einer großen Menge von Nebennieren sowohl gesunder, als auch mit Saponin injizierter Kaninchen die doppelbrechenden Substanzen in der Nebennierenrinde als sehr wechselnd. Dies erwähnt auch schon Kawamura. Es gelang uns auch bisher nicht, durch irgendwelche Vorbehandlung der Gefrierschnitte stets eine gleichmäßig auftretende Doppelbrechung hervorzurufen.

Aus diesem Grunde nahmen wir als Versuchstiere Katzen, bei denen sich normalerweise in allen untersuchten Fällen doppelbrechende Substanzen in der Nebennierenrinde fanden, die sich auch durch ihr färberisches Verhalten als Cholesterinester erwiesen.

Über die Technik unserer Versuche sei folgendes gesagt:

Als Injektionsflüssigkeit wurde eine 0,5%ige Saponinlösung benutzt. Diese Lösung wurde in der Weise hergestellt, daß 0,5 g Saponin der Firma Merck mit 100 g 0,9%iger Kochsalzlösung im Wasserbade 10 Minuten lang erhitzt wurde. Diese Lösung wurde mit Rücksicht darauf, daß eine Saponinlösung im Laufe der Zeit an hämolytischer Kraft einbüßt, bei jeder Injektion erneuert.

Die Injektionen wurden ohne Narkose in die Vena saphena gemacht, in einzelnen Fällen in die Ohrvene.

Zur Anstellung der hämolytischen Versuche wurden jedesmal folgende Lösungen frisch hergestellt:

1. eine 0,05%ige Saponinlösung in isotonischer Kochsalzlösung.
2. eine 2,5%ige Blutkörperchenaufschwemmung, die in der Weise gewonnen wurde, daß einem gesunden Tier des gleichen Spezies einige

Kubikzentimeter Blut entnommen wurden, die dann defibriniert und zentrifugiert wurden. Das Serum wurde hierauf abgehoben und die Blutkörperchen dreimal mit einer isotonischen Kochsalzlösung ausgewaschen. Die gewaschenen roten Blutkörperchen wurden nun so mit isotonischer Kochsalzlösung versetzt, daß eine 2,5%ige Aufschwemmung entstand.

3. Zum Zwecke der Gewinnung des zu untersuchenden Serums wurden dem betreffenden Tier aus der Ohrvene einige Kubikzentimeter Blut entnommen. Diese wurden zentrifugiert, das ausgepreßte Serum wurde mit einer Pipette abgehoben und mit isotonischer Kochsalzlösung in der Weise verdünnt, daß eine 20%ige Lösung entstand.

Nachdem diese drei Lösungen fertiggestellt waren, wurde in eine Reihe von Reagenzgläschen je 1 ccm der 2,5%igen Blutkörperchenaufschwemmung gebracht. Hierauf wurde dieser Blutkörperchenaufschwemmung in steigender Folge 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,30% usw. Serumverdünnung zugesetzt, und umgeschüttelt. Es wurde einige Minuten zugewartet und dann als letztes jedem der Reagenzgläschen 0,5 ccm der 0,05%igen Saponinlösung zugesetzt und sofort durch vorsichtiges Umdrehen mit dem übrigen Inhalt vermischt.

Die Reagenzgläschen wurden hierauf in einen Brutschrank mit 37° 3 Stunden lang gestellt und dann bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 24 Stunden wurde das Resultat der Versuche abgelesen und protokolliert.

Die Versuche wurden möglichst steril durchgeführt. Die Reagenzgläschen waren mit Wattestopfen versehen, um den Versuch nicht durch Hineingelangen von Bakterien zu stören.

Die Behandlung der Nebennieren gestaltete sich folgendermaßen: Die Nebennieren wurden bei der Sektion des Tieres sorgfältig herauspräpariert, durch Abtupfen mit Fließpapier möglichst von Blut befreit, und gewogen. Hierauf wurden sie 24 Stunden lang in Formalin gehärtet, dann mittelst des Gefriermikrotomes in zahlreiche Schnitte zerlegt, und zwar wurde die rechte Nebenniere stets quer, die linke stets längs geschnitten. Nun wurden stets je mehrere Schnitte mit Hämalauneosin, mit Sudan III, mit Nilblau und nach der Smith-Dietrichschen Methode gefärbt.

Mehrere Schnitte wurden in Glyzerin eingebettet und unter dem Polarisationsmikroskop untersucht. Es wurde bei diesen Schnitten das Verhalten der doppelbrechenden Substanzen beim Erhitzen und Wiederabkühlen beobachtet.

Bezüglich der Färbbarkeit und des physikalischen Verhaltens

der lipoiden Substanzen zeigt die Nebenniere einer normalen Katze folgendes Bild:

Bei einer jungen Katze ist zumeist mit Ausnahme eines schmalen äußeren Saumes, der etwa der Glomerulosa entsprechen dürfte, und eines etwas breiteren Saumes innen an der Rindenmarkgrenze (Reticularis) die ganze Rinde von Zellen ausgefüllt, die zahlreiche doppelbrechende Tropfen erkennen lassen (Fasciculata). Siehe Tafel I/II, Figur 1.

Bei Färbung mit Sudan III erscheinen diese Tropfen gelbrot, gleichzeitig finden sich in der äußeren und inneren Zone zahlreiche feinere mehr gelbrote Tröpfchen, die sich mit Nilblau blau färben, während die größeren Tropfen der Fascicularis rotviolett erscheinen. Nach Smith-Dietrich sind die größeren Tropfen leicht schwärzlich (wie von einem schwärzlich gefärbten Schleier umgeben), gleichzeitig finden sich aber noch intensiv schwarz gefärbte feinste Tröpfchen in allen drei Schichten.

Bei einer erwachsenen Katze ist das Bild insofern anders, als sich die doppelbrechende Substanz in der Hauptsache auf eine schmale Zone beschränkt, die etwa dem äußeren Drittel der Fascicularis angehört. Siehe Tafel I/II, Figur 2. Hier zeigen die doppelbrechenden Tropfen mit Sudan III eine gelbrote Färbung, mit Nilblau eine rotviolette Farbe, mit Smith-Dietrich eine schwärzliche »Hülle«. Daneben finden sich sowohl in dieser Zone, als besonders in der Zona reticularis noch zahlreiche kleinere, mit Smith-Dietrich schwarze, mit Nilblau blaue und mit Sudan III gelbrötlich färbbare Tröpfchen. Die inneren zwei Drittel der Zona fascicularis enthalten meistens nur sehr wenig lipoide Substanzen, die dann ähnliche färberische Eigenschaften wie die der Zona reticularis aufweisen. Dasselbe gilt von der Zona glomerulosa.

Es wird nun konstatiert, daß die doppelbrechenden Substanzen bei Fixierung der Nebennieren in Formalin und Anfertigung von Gefrierschnitten, die in Glyzerin eingebettet wurden, unter dem Polarisationsmikroskop als doppelbrechende Kristalle erscheinen, die beim Erwärmen ihre doppelbrechende Eigenschaft verlieren, um dann bei Wiedererkalten als doppelbrechende Tropfen wieder zu erscheinen. Diese Tropfen färben sich nicht mit Neutralrot. Andererseits ist bei den mit Nilblau blau und mit der Smith-Dietrichschen Methode schwarz gefärbten Tröpfchen nie eine Doppelbrechung zu erzielen gewesen. Nur die einigemal ausgeführte Färbung mit Neutralrot fiel positiv aus.

Wir dürfen also in der doppelbrechenden Substanz, vorausgesetzt,

daß die Kawamuraschen Untersuchungen zu Recht bestehen, Cholesterinester erblicken, bzw. Cholesterinfettsäuregemische.

Diese beiden zu trennen lag nicht in unserer Absicht, da es uns nur darauf ankam, uns durch die mikroskopische Untersuchung eine ungefähre Vorstellung von der Menge der überhaupt cholesterinhaltigen Substanzen in der Nebennierenrinde zu bilden.

In den übrigen färberisch darstellbaren Substanzen müssen wir wohl Lipoide erblicken, unter denen vielleicht auch solche sind, die Cholesterin in anderer als in esterartiger Bindung enthalten. Es sei nun aber gleich bemerkt, daß bei allen unseren Untersuchungen sich der Befund erheben ließ, daß die Menge dieser Substanzen mit der Menge der echten Cholesterinester zu- oder abnahm. Nur war stets zu konstatieren, daß diese Lipoide an Menge die Cholesterinester übertrafen, so daß auch bei fast völliger Abwesenheit dieser jene noch in geringem Maße vorhanden waren. Auf den Parallelismus des Cholesterinester mit den sonstigen Lipoiden weist auch Kawamura in seiner Monographie über die Cholesterinesterverfettung hin. Wir möchten daraus nur die Berechtigung ableiten, im mikroskopischen Befund der Protokolle zumeist nur die doppelbrechende Substanz zu erwähnen, da diese uns zugleich ein Bild der übrigen Lipoide liefert.

Im einzelnen lauten die Protokolle unserer Versuche folgendermaßen:

Katze 8. Erwachsen. Gewicht 1720 g.

1. Versuchstag: 0,55 ccm 20%igen Serumzusatzes ergibt kompl. Hemmung.
Nachm.: 1 ccm einer 1%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
Nach 30 Min.: Blutentnahme: 0,65 ccm 20%igen Serumzusatzes ergibt komplette Hemmung.
2. Versuchstag: Tier in der Nacht gestorben.

Die mikroskopische Untersuchung der Nebennieren ergibt: Die doppelbrechende Substanz ist im äußeren Drittel der Zona fascicularis in Form eines kontinuierlichen Bandes vorhanden. Auch in dem inneren Drittel einige doppelbrechende Tropfen. Mit Sudan III, Nilblau, Smith lassen sich in Reticularis und Fascicularis viele lipoide Körnchen darstellen.

Gewicht der Nebennieren: 0,31 g.

Katze 17. Erwachsen. Gewicht 1700 g.

1. Versuchstag: 0,55 ccm 20%igen Serumzusatzes ergibt kompl. Hemmung.
Nachm.: 1 ccm einer 0,5%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
Nach 30 Min.: Blutentnahme ergibt dasselbe Resultat wie Katze 8.

Mikroskopische Untersuchung: Im allgemeinen entsprechen die doppelbrechenden Substanzen der Norm. Hier und da finden sich in einzelnen Schnitten kleine Flecken, die ganz frei von Doppelbrechung sind. Wir wollen solche Stellen als Aussparungen bezeichnen.

Katze XI. Erwachsen. Gewicht 2850 g.

1. Versuchstag: 0,60 ccm 20%igen Serumzusatzes ergibt kompl. Hemmung.
Nachm.: 0,5 ccm einer 1%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
Nach 7 Stdn.: Katze erschossen. Hemmende Kraft des Serums bei 1,0 eben beginnend, bei 2,0 komplette Hemmung.

Mikroskopische Untersuchung: Wesentliche Veränderungen in der Menge der doppelbrechenden Substanz sind nicht zu konstatieren.

Katze XII ebenso wie Katze XI.

Katze 3. Junges Tier. 1200 g.

1. Versuchstag: 1 ccm einer 1%igen Saponinlösung subkutan injiziert.
2. » Katze spontan gestorben.

Mikroskopische Untersuchung: Das Bild des Aufbaues entspricht dem der jungen Tiere. Nur ist die doppelbrechende Substanz nicht als kontinuierlicher Streifen sichtbar, sondern enthält in vielen Schnitten kleinere oder größere Aussparungen.
Gewicht der Nebennieren: 0,24 g.

Katze 6. Junges Tier. 1200 g.

1. Versuchstag: 1 ccm einer 1%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
2. » Tier in der Nacht gestorben.

Mikroskopische Untersuchung: Die doppelbrechende Substanz zeigt Aussparungen, aber spärlich — kaum wesentlich mehr, als man sie auch wohl bei normalen Tieren findet.
Gewicht der Nebennieren: 0,19 g.

Katze 7. Erwachsen. 1760 g.

1. Versuchstag: 1 ccm einer 1%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
2. » Tier in der Nacht gestorben.

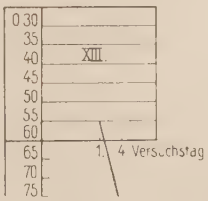
Mikroskopische Untersuchung: Die Nebenniere zeigt bis auf geringe Aussparungen normalen Befund.
Gewicht der Nebennieren 0,31 g.

Katze XIII. Erwachsen. 2020 g.

1. Versuchstag: 0,6 ccm einer 0,5%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
3. » 0,3 » » 0,3%igen » » »
4. » Tier wurde erschossen.

Das Blutserum des getöteten Tieres hemmt komplett erst bei 0,75 ccm im Gegensatz zu 0,55 ccm des gesunden Tieres.

Mikroskopische Untersuchung: Die doppelbrechende Substanz fehlt fast völlig, auch bei häufigem Erwärmen und Abkühlen finden sich nur hier und da einige doppelbrechende Tröpfchen. Die übrigen Lipoide sind stark vermindert, wenn auch noch etwas vorhanden.



Kurve XIII.

Katze 2. Junges Tier. 960 g.

1. Versuchstag: 1 ccm einer 1%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
3. » Tier ist in der Nacht gestorben.

Mikroskopische Untersuchung: Es finden sich ziemlich reichliche Aussparungen, wenn auch nicht so reichlich als beim vorigen Tier.
Gewicht der Nebennieren: 0,15 g.

Katze 18. Erwachsen. 1850 g.

1. Versuchstag: 0,50 ccm 20%igen Serums des gesunden Tieres hemmen komplett.
Nachm.: 0,50 ccm einer 0,5%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
4. Versuchstag: 0,45 » 20%igen Serums hemmen jetzt komplett.
Nachm.: 1,0 » einer 0,5%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
5. Versuchstag: Tier ist in der Nacht gestorben.

Mikroskopische Untersuchung: In der Zona fascicularis, die normalerweise Doppelbrechung enthält, ist fast nichts von Doppelbrechung zu sehen, dagegen ist die Zona glomerulosa in geringem Grade mit doppelbrechenden Tropfen erfüllt.
Gewicht der Nebennieren: 0,31 g.

Katze 14. Junges Tier. 910 g.

1. Versuchstag: 0,5 ccm einer 0,5%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
5. » 1,0 » » » » » »
6. » Tier in der Nacht gestorben.

Mikroskopische Untersuchung: Die Zona fascicularis ist fast frei von doppelbrechenden Substanzen, dagegen finden sich in der Reticularis in mäßiger Menge doppelbrechende Tropfen. Siehe Tafel I II, Fig. 3.
Gewicht der Nebennieren: 0,20 g.

Katze 5. Altes Tier. 3080 g.

1. Versuchstag: 1,0 ccm einer 1%igen Saponinlösung intravenös injiziert.
3. » 1,0 » » » » » »
5. » 1,5 » » » » » »
6. » Katze in der Nacht gestorben.

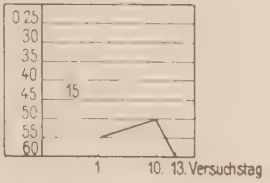
Mikroskopische Untersuchung: Es finden sich starke Aussparungen, streckenweise gar keine doppelbrechenden Substanzen. Dabei zahlreiche Verkalkungen in der Zona fascicularis.
Gewicht der Nebennieren: 0,44 g.

Katze 15. Erwachsen. 1040 g.

1. Versuchstag: 0,55 ccm 20%igen Serums hemmen kompl. die Hämolyse.
Nachm.: 0,75 » einer 0,5%igen Saponinlösung intrav. injiziert.
5. Versuchstag: 0,75 » » » » » »

10. Versuchstag: 0,50 ccm 20 % igen Serums hemmen komplett.
Nachm.: 0,75 » einer 0,5 % igen Saponinlösung intrav. injiziert.
13. Versuchstag: 0,60 ccm 20 % igen Serums hemmen komplett.
Nachm.: 0,75 » einer 0,5 % igen Saponinlösung intrav. injiziert.
14. Versuchstag: Tier in der Nacht gestorben.

Mikroskopische Untersuchung: Die Rinde zeigt sehr starke Aussparungen.
Gewicht der Nebennieren: 0,24 g.

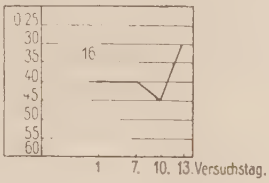


Kurve 15.

Katze 16. Erwachsen. 2090 g.

1. Versuchstag: 0,40 ccm 20 % igen Serums hemmen komplett.
Nachm.: 1,0 ccm einer 0,5 % igen Saponinlösung intrav. injiziert.
5. Versuchstag: 0,5 ccm einer 0,5 % igen Saponinlösung intrav. injiziert.
7. » 0,40 » 20 % igen Serums hemmen komplett.
Nachm.: 0,5 » einer 0,5 % igen Saponinlösung intrav. injiziert.
10. Versuchstag: 0,45 » 20 % igen Serums hemmen komplett.
Nachm.: 1,0 » einer 0,5 % igen Saponinlösung intrav. injiziert.
13. Versuchstag: 0,30 » 20 % igen Serums hemmen komplett.
Nachm.: 1,0 » einer 0,5 % igen Saponinlösung intrav. injiziert.
14. Versuchstag: Tier in der Nacht gestorben.

Mikroskopische Untersuchung: Die Rinde zeigt einen Streifen doppelbrechender Substanz an normaler Stelle, in dem sich nur hier und da einzelne Unterbrechungen finden. Abweichend vom Normalen finden sich aber auch in den inneren zwei Dritteln der Zona fasciculatis und ebenso in der Reticularis doppelbrechende Tropfen und sehr reichlich nach den übrigen Methoden darstellbare lipoide Substanzen. Auch um die großen Venen des Markes finden sich Inseln von Rindensubstanz, von denen einige das Licht doppelt brechen.



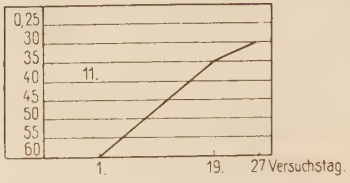
Kurve 16.

Gewicht der Nebennieren: 0,56 g.

Katze 11. Halberwachsen. 1150 g.

1. Versuchstag: 0,60 ccm 20 % igen Serums hemmen komplett.
Nachm.: 0,3 » einer 0,5 % igen Saponinlösung intrav. injiziert.
3. Versuchstag: 0,3 » » » » » »
5. » 0,5 » » » » » »
8. » 0,3 » » » »
12. » 0,5 » » » » »
14. » 0,5 » » » » » »
17. » 0,5 » » » » » »
19. » 0,35 » 20 % igen Serums hemmen komplett.
26. » 0,30 » » » » »
27. » 0,5 » einer 0,5 % igen Saponinlösung intrav. injiziert.
28. » Tier erschossen.

Mikroskopische Untersuchung: Die Rindensubstanz zeigt nicht nur die ganze Zona glomerulosa und fascicularis aufs dichteste durchtränkt mit doppelbrechenden Tropfen, sondern auch die Zona reticularis, die normalerweise von diesen frei ist, ist hier mit doppelbrechenden Tropfen angefüllt. Siehe Tafel I/II, Figur 6a u. b und Kurve 11.



Kurve 11.

Gewicht der Nebennieren: 0,38 g.

Katze 10. Halberwachsen. 1050 g.

1. Versuchstag:	0,25 ccm	einer	0,5 %igen	Saponinlösung	intrav.	injiziert		
3.	»	0,25	»	»	»	»	»	»
5.	»	0,25	»	»	»	»	»	»
8.	»	0,50	»	»	»	»	»	»
12.	»	0,50	»	»	»	»	»	»
14.	»	0,50	»	»	»	»	»	»
17.	»	0,50	»	»	»	»	»	»
19.	»	0,50	»	»	»	»	»	»
20.	»	1,0	»	»	»	»	»	»
21.	»	Tier in der Nacht gestorben.						

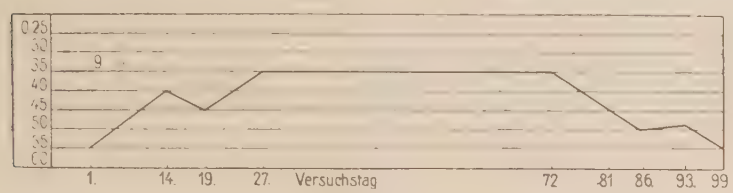
Mikroskopische Untersuchung: Ebenso wie Katze 11; nur sind geringe Aussparungen zu sehen.

Gewicht der Nebennieren: 0,31 g. Siehe Tafel I/II, Figur 5.

Katze 9. Erwachsen. 1650 g.

1. Versuchstag:	0,55 ccm	20 %igen Serums	hemmen komplett.
Nachm.:	0,5 »	einer 0,5 %igen Saponinlösung	intrav. injiziert.
3. Versuchstag:	0,5 »	injiziert.	
5. »	0,5 »	»	
7. »	0,5 »	»	
10. »	0,5 »	»	
14. »	0,40 »	20 %igen Serums	hemmen komplett.
Nachm.:	0,75 »	einer 0,5 %igen Saponinlösung	intrav. injiziert.
16. Versuchstag:	1,0 »	injiziert.	
19. »	0,45 »	20 %igen Serums	hemmen komplett.
21. »	1,0 »	injiziert.	
27. »	0,35 »	20 %igen Serums	hemmen komplett.
Nachm.:	0,5 »	injiziert.	
72. Versuchstag:	0,35	20 %igen Serums	hemmen komplett.
76. »	0,5 »	injiziert.	
81. »	0,45 »	20 %igen Serums	hemmen komplett.
84. »	0,5 »	injiziert.	
86. »	0,5 »	20 %igen Serums	hemmen komplett.
88. »	0,5 »	injiziert.	
93. »	0,5 »	20 %igen Serums	hemmen komplett.

95. Versuchstag: 0,5 ccm injiziert.
99. » 0,5 » 20%igen Serums hemmen komplett.
115. » Tier gestorben. (Schutzkraft des Serums konnte aus äußeren Gründen nicht untersucht werden.)



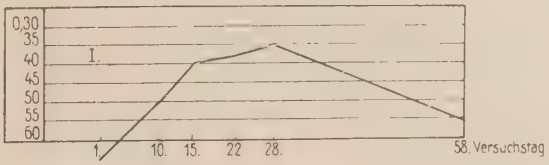
Kurve 9.

Mikroskopische Untersuchung: Die Rinde der Nebennieren zeigt in allen drei Zonen nur ganz spärliche doppelbrechende Tröpfchen. Siehe Tafel I/II, Figur 4 und Kurve 9.

Gewicht der Nebennieren: 0,32 g.

Katze I. Erwachsen. 2450 g.

1. Versuchstag: 0,65 ccm 20%igen Serums hemmen komplett.
Nachm.: 0,5 » einer 0,5%igen Saponinlösung intrav. injiz.
5. Versuchstag: 0,5 » » 0,5 » » » »
10. » 0,50 » 20%igen Serums hemmen komplett.
13. » 0,5 » einer 0,5%igen Saponinlösung intrav. injiz.
15. » 0,40 » 20%igen Serums hemmen komplett.
17. » 0,5 » injiziert.
22. » 0,35 » 20%igen Serums hemmen komplett.
24. » 1,0 » injiziert.
28. » 0,35 » 20%igen Serums hemmen komplett.
48. » 0,75 » injiziert.
56. » 0,65 » »
58. » 0,55 » 20%igen Serums hemmen komplett.
63. » Tier wurde erschossen.



Kurve I.

Mikroskopische Untersuchung: Die Rinde zeigt zwar in der äußeren Zone hier und da einige Lücken, doch finden sich doppelbrechende Tropfen noch außerordentlich dicht in den inneren zwei Dritteln der Zona fascicularis sowie in der Zona glomerulosa. Ferner ist auffällig, daß ein

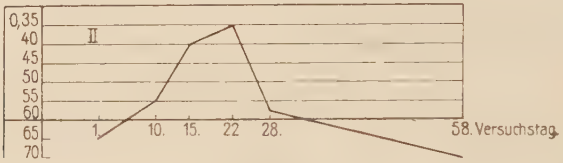
außerordentlicher Reichtum an mit Smith-Dietrich färbbaren Substanzen vorhanden ist.

Gewicht der Nebennieren: 0,55 g.

Katze II: 2600 g, erwachsen,
Katze III: 2600 » » } wurden in genau derselben Weise injiziert und an eben denselben Tagen Blut entnommen, wie Katze I. Für sie gelten also dieselben Protokolle.

Die hämolytischen Versuche ergaben bei Katze II

am 1. Versuchstag komplette Hemmung bei 0,65 ccm 20% igen Serums.
» 10. » » » » 0,55 » » »
» 15. » » » » 0,40 » » »
» 22. » » » » 0,35 » » »
» 28. » » » » 0,60 » » »
» 58. » » » » 0,70 » » »
» 63. » Tier erschossen.



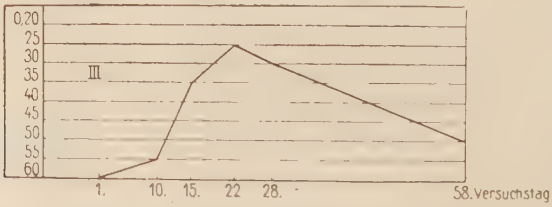
Kurve II.

Mikroskopische Untersuchung: Bei Katze II sind die Aussparungen etwas reichlicher als bei I, sonst bieten sie jedoch dasselbe Bild.

Gewicht der Nebennieren: 0,41 g.

Katze III. Die hämolytischen Versuche ergaben

am 1. Versuchstag komplette Hemmung bei 0,60 ccm 20% igen Serums.
» 10. » » » » 0,55 » » »
» 15. » » » » 0,35 » » »
» 22. » » » » 0,25 » » »
» 28. » » » » 0,30 » » »
» 58. » » » » 0,50 » » »
» 63. » Tier erschossen.

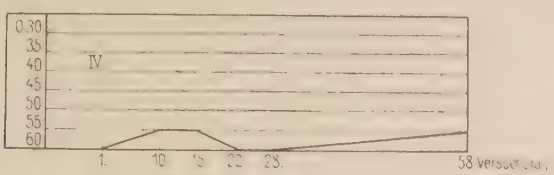


Kurve III.

Mikroskopische Untersuchung: Die Nebennieren bieten dasselbe Bild wie Katze I.

Gewicht der Nebennieren: 0,53 g.

Katze IV. Bei Katze IV wurden zur Kontrolle stets zu gleicher Zeit, wie bei Katze I, II, III, hämolytische Versuche angestellt, die zeigten, daß die hämolytische Schutzwirkung des Serums sich mit nur ganz geringen Abweichungen auf derselben Stufe hielt und nicht wesentlich durch die Nahrung beeinflußt wurde.



Kurve IV.

Die Versuche an Katze 9 und I—IV hatten überhaupt nur den Zweck, auch bei erwachsenen Katzen die Möglichkeit eines Anstieges der Schutzkraft des Serums bei chronischer Vergiftung zu untersuchen.

Der besseren Übersicht wegen seien die Versuchsprotokolle noch einmal kurz in einer Tabelle zusammengestellt. Die Schwankungen in der Schutzkraft des Blutserums sind zum Teil durch beigegebene Kurven ausgedrückt. Auf der Abszisse sind die Versuchstage, auf der Ordinate die Mengen des hemmenden Serums in Kubikzentimeter eingetragen.

Tabelle I.

Protok.-N.	Versuchsdauer	Zahl der Injektionen	Schutzkraft des Serums	Befund in Nebennieren
8	1 Tag	1×1 ccm 1%	Kurz nach Injektion gesunken	Normale Menge doppelbrechender Substanzen.
17	1 Tag	1×1 ccm 0,5%	Kurz nach Injektion gesunken	Normale Menge doppelbrechender Substanzen.
XI	1 Tag	1×0,5 ccm 1%	7 Std. nach Injektion gesunken	Normale Menge doppelbrechender Substanzen.
XII	1 Tag	1×0,5 ccm 1%	7 Std. nach Injektion gesunken	Normale Menge doppelbrechender Substanzen.
3	2 Tage	1×1 ccm 1%		Kleinere und größere Aussparungen.
6	2 Tage	1×1 ccm 1%		Nur geringe Aussparung.
7	2 Tage	1×1 ccm 1%		Geringe Aussparungen.
XIII	4 Tage	1×0,6 ccm 0,5% 1×0,3 ccm 0,5%	Gesunken (kurz vor dem Tode untersucht)	Doppelbrechende Substanz fehlt fast völlig.
2	3 Tage	1×1 ccm 1%		Ziemlich reichliche Aussparungen.

Fortsetzung von Tabelle I.

Protok.-Nr.	Versuchsdauer	Zahl der Injektionen	Schutzkraft des Serums	Befund in Nebennieren
18	5 Tage	1×0,5 ccm 0,5% 1×1 ccm 0,5%	Gering erhöht (am 4. Versuchstag untersucht, vor der letzten Injektion!)	Wenig doppelbrechende Substanz.
14	6 Tage	1×0,5 ccm 0,5% 1×1,0 ccm 0,5%		Wenig doppelbrechende Substanz. (Siehe Fig. 3.)
5	6 Tage	2×1 ccm 1% 1×1,5 ccm 1%		Starke Aussparungen.
15	13 Tage	4×0,75 ccm 0,5%	Schutzkraft zunächst etwas gestiegen, dann gefallen	Sehr starke Aussparungen.
16	14 Tage	2×0,5 ccm 0,5% 3×1,0 ccm 0,5%	Schutzkraft zunächst gesunken, dann stark angestiegen	Rinde reich an doppelbrechenden Substanzen.
11	28 Tage	3×0,3 ccm 0,5% 5×0,5 ccm 0,5%	Schutzkraft kontinuierlich gestiegen	Alle 3 Zonen dicht angefüllt mit doppelbrechend. Substanzen. (Siehe Fig. 5.)
10	21 Tage	3×0,25 ccm 0,5% 5×0,5 ccm 0,5% 1×1 ccm 0,5%		Alle drei Zonen dicht angefüllt mit doppelbrechenden Substanzen. (S. Fig. 6a = Querschnitt u. Fig. 6b = Längsschnitt.)
I	63 Tage	4×0,5 ccm 0,5% 1×0,65 » » 1×0,75 » » 1×1,0 » »	Schutzkraft zunächst stark gestiegen, dann etwas gesunken, aber nicht bis zur Norm	Reichliche Menge doppelbrechender Substanz.
II	63 Tage	4×0,5 ccm 0,5% 1×0,65 » » 1×0,75 » » 1×1,0 » »	Schutzkraft zunächst gestiegen, dann abgefallen	Geringe Menge doppelbrechender Substanzen mit Aussparungen.
III	63 Tage	4×0,5 ccm 0,5% 1×0,65 » » 1×0,75 » » 1×1,0 » »	Schutzkraft zunächst sehr stark gestiegen, um dann etwas abzufallen	Reichliche Menge an doppelbrechenden Subst.
IV	63 Tage	—	Schutzkraft stets gleich geblieben	Normales Bild.
9	115 Tage	11×0,5 ccm 0,5% 1×0,75 » 2×1,0 » »	Schutzkraft zunächst gestiegen, dann stark abgefallen	Nebennieren fast völlig frei von doppelbrechend. Substanz. (Siehe Fig. 4.)

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. Die hämolytische Schutzwirkung des Blutserums läßt sich durch die gewöhnliche Stallfütterung nicht wesentlich beeinflussen.

2. Kurz nach Injektion einer größeren Dosis Saponinlösung fällt der Cholesteringehalt des Blutserums ab.

3. Diese Herabsetzung des Cholesteringehaltes kann — bei genügend hoher Dosis — bis zum Tode anhalten.

4. Erfolgt der Tod des Tieres 1—2 Tage nach der Injektion, so weisen die Nebennieren kleine, mikroskopisch sicher nachweisbare Veränderungen im Cholesterinestergehalt auf.

5. Bleiben die Tiere mehrere Tage nach der Injektion am Leben, so kann der Cholesteringehalt des Blutes wieder ansteigen. Ob es sich in diesen Fällen um ein »Reizungsstadium« der Nebennierenrinde handelt (Albrecht und Weltmann) wurde nicht untersucht.

6. Werden die Injektionen nach anfänglichem Anstieg des Cholesteringehaltes mit großen Dosen Saponinlösung wiederholt, und sterben die Tiere dann nach 1—3 Tagen, so zeigt die Nebennierenrinde Aussparungen an doppelbrechender Substanz, bis zur fast völligen Entleerung.

7. Es läßt sich, besonders bei jungen Tieren, durch Injektion kleiner Dosen, die etwa alle 4—8 Tage injiziert wurden, ein ganz unzweifelhaftes allmähliches Ansteigen der Schutzkraft des Serums erzielen. Ich beobachtete eine Erhöhung auf das doppelte bis dreifache der Norm.

8. In solchen Fällen fand sich ein außerordentlicher Reichtum an Cholesterinestern in der Nebennierenrinde.

Albrecht und Weltmann berichteten bereits 1911 in einer Sitzung des Wiener ärztlichen Vereins über ähnliche Versuche mit ähnlichen Ergebnissen. Auch die von uns beobachtete Tatsache einer bei chronischen Saponindosen langsam steigenden Schutzkraft des Serums wurde 1900 von Pohl beobachtet. Ransom konnte desgleichen durch Saponinbehandlung Kaninchen in geringem Grade gegen dieses Gift immunisieren. Bashford kam 1901 auf Grund seiner Versuche zu gegenteiliger Ansicht, doch konnte Pohl seine Beobachtungen zu wiederholtem Male erheben. Kobert bestätigte 1909 die Ergebnisse Pohls, so daß es wohl jetzt als eine Tatsache angesehen werden darf, daß es gelingt, mit einem bekannten Giftstoff eine langsame Steigerung eines chemisch bekannten Schutzstoffes im Serum erzeugen. Gleichzeitig mit dem Ansteigen dieses Schutzstoffes, des Cholesterins, im Serum findet sich eine Vermehrung von Lipoiden, besonders Cholesterinestern, in der Nebennierenrinde.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Professor Borst und Herrn Privatdozent Dr. Hueck meinen Dank aussprechen für die Anregung zu dieser Arbeit und die liebenswürdige Unterstützung mit Ratschlägen, die sie mir bei ihrer Abfassung zu teil werden ließen.

Literatur.

Adami, J. G., The Myelines and Potential Fluid Crystalline Bodies of the Organism. Journ. Americ. Medic. Assoc. 1907, Vol. XLVIII, p. 463. — Adami und Aschoff, On the Myelines, Myelin Bodies and Potential Fluid Crystals of the Organism. Proc. Royal Soc. 1906, Vol. 78, p. 359. — Albrecht und Weltmann, Über das Lipoïd der Nebennierenrinde. Wiener klinische Wochenschrift 1911, S. 483. — Bashford, E. F., Über Blutimmunität. Arch. intern. de Pharmac. et de Thér. Bd. 8, 1901, S. 101. — Hueck, W., Über die Beziehungen der Fettsubstanz der Nebennierenrinde zu Allgemeinerkrankungen. Vortrag im ärztlichen Verein München. 12. Juli 1911. — Karaulow, Über Entgiftung glukosidischer Herzgifte durch Cholesterin in Versuchen an ausgeschnittenen Froschherzen. Biochem. Zeitschr. Bd. 32, 1911, S. 145. — Kawamura, Die Cholesterinesterverfettung. Jena, Verlag von G. Fischer, 1911. — Kaiserling und Orgler, Über das Auftreten von Myelin in Zellen und seine Beziehung zur Fettmetamorphose. Virchows Archiv 1902, Bd. 167. — Kaiserling, Nachweis, Vorkommen und Bedeutung der Zellipoide. Berl. Klin. Wochenschrift 1910, Nr. 47. — Klemperer und Umber, Zur Kenntnis der diabetischen Lipämie. Zeitschrift für klin. Med. 1908, Bd. 65. — Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart, Enke, 1904. — Orgler, Über das Vorkommen eines protargonartigen Körpers in den Nebennieren. Festschrift für Salkowski 1904. Berlin-Hirschwald. — Panzer, Doppelbrechende Substanzen aus pathologischen Organen. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1907, Bd. 54, S. 239. — Pohl, G., Über Blutimmunität. Arch. internat. de Pharm. et de Thér. Bd. 7, 1900, p. 1 u. Bd. 8, 1901, p. 437. — Port, Die Saponinhaemolyse und ihre Hemmung durch das Serum. Deutsch. Archiv f. klin. Med. 1910, Bd. 99, S. 259. — Ransom, Saponin und sein Gegengift. Deutsche med. Wochenschrift 1901, S. 194. — Ransom, Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Förderung der gesamten Naturwissenschaften. Marburg, Febr. 1901. — Windaus, Über den Gehalt normaler und atheromatöser Aorten an Cholesterin und Cholesterinestern. Hoppe-Seylers Zeitschr. d. physiol. Chemie 1910, Bd. 67, H. 2. — Windaus, Über die Entgiftung der Saponine durch Cholesterin. Bericht d. deutsch. chem. Gesellsch. 1909, Bd. 42, I, S. 238.

Lebenslauf.

Ich, Max Otto Eberhard Köhler, wurde geboren am 19. VIII. 1887 in Wehlheiden bei Kassel als Sohn des Finanz- und Baurates Carl Köhler. Bis zu meinem 9. Lebensjahre wurde ich privatim unterrichtet, bestand im Jahre 1896 die Aufnahmeprüfung für das kgl. Realgymnasium in Annaberg i. Erzgeb., wo ich im Jahre 1905 das Zeugnis der Reife erhielt. Hierauf studierte ich zwei Semester Philologie in Marburg a. d. L., um dann zum Studium der Medizin umzusatteln. Ein Semester verblieb ich noch als Student der Medizin in Marburg, bezog hierauf die Universität Leipzig, wo ich nach weiteren vier Semestern medizinischen Studiums im S.-S. 1908 das Physikum bestand. Die folgenden fünf Semester verbrachte ich an der Universität München, wo ich alsdann am 12. VII. 1912 das medizinische Staatsexamen bestand.

Otto Köhler.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

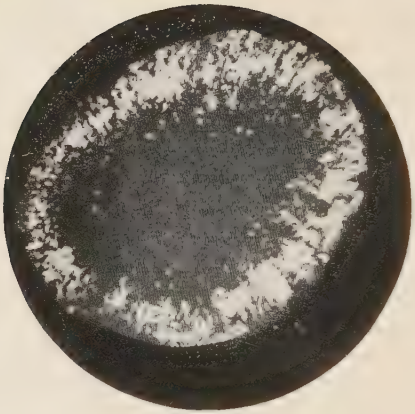


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6 a.

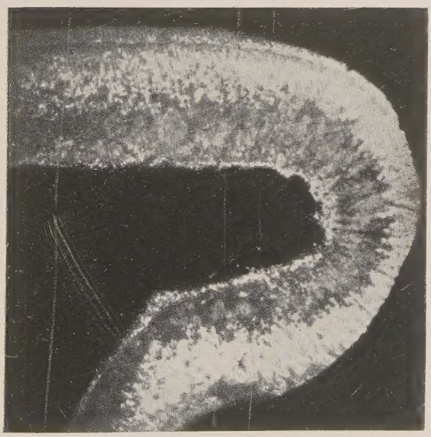


Fig. 6 b.